



## 超敏 ECL 化学发光检测试剂盒

### ECL Substrate Kit (Ultra High Sensitivity)

#### 产品信息

产品货号	产品名称	产品组分	产品规格	储存
JY01051/ JY01052/ JY01053	超敏 ECL 化学发光检测试剂盒 ECL Substrate Kit (Ultra High Sensitivity)	超敏 ECL A 液 超敏 ECL B 液	100 mL (50+50)/ 200 mL (100+100)/ 500 mL (250+250)	4 °C

#### 产品简介

江苑生物研发的超敏 ECL 化学发光检测试剂盒是一种超高灵敏度的以 luminol 为基础的 ECL 化学发光检测试剂盒。本产品可与抗体上偶联的辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 发生化学反应, 产生荧光, 从而可以通过 X 光压片或其他适当荧光成像设备 (CCD 相机等) 检测样品, 检测灵敏度可达飞克 (fg) 级。本产品优化了底物的成分, 应用了新型的增强剂和氧化剂, 发光强度更高, 稳定性更好, 不含有毒试剂, 安全性更高。

江苑生物生产的 ECL 化学发光检测试剂盒有两种, 常规的 Western 检测, 例如丰富度较高的目的蛋白检测, 优先推荐使用高敏 ECL 化学发光检测试剂盒。对于低丰度较难检测的目的蛋白, 优先推荐使用检测灵敏度更高的超敏 ECL 化学发光检测试剂盒。

#### 保存条件

4 °C 保存, 1 年有效。若长期不用, 可以 -20 °C 保存, 延长有效期。

#### 注意事项

1. ECL A 液和 B 液在吸取过程中必须要更换吸头, A 液和 B 液相互污染后会逐渐失效。各溶液使用后, 请盖紧瓶盖, 特别是 B 液, 含有氧化剂, 容易被还原而失效。
2. 如果目的蛋白条带过曝, 可以缩短曝光时间, 或者减少样品、一抗及二抗的用量。
3. 如果荧光迅速淬灭, 可能原因是目的条带荧光过强, 导致 HRP 迅速消耗 ECL。
4. 如果没有发光信号, 可能是目的蛋白表达很弱, 可延长曝光时间。
5. 金属氧化物颗粒可能会造成膜上出现颗粒状斑点, 避免使用带有锈迹的剪刀以及镊子, 建议使用塑料的平头镊子。
6. 应使用高质量保鲜膜。质量较差的保鲜膜可能会淬灭荧光或由于含有杂质而污染印迹膜造成曝光背景值偏高。
7. 避免将多张膜置于同一个洗膜盒内洗膜, 相互吸附或摩擦可能造成很深的背景。
8. 叠氮化钠 (NaN<sub>3</sub>) 能抑制 HRP 活性, 若回收 HRP 标记探针或者抗体应避免使用 NaN<sub>3</sub>, 如必需使用勿超过 0.01%。
9. 本产品仅用于科学研究, 不得用于临床诊断和治疗, 不得用于食品和药品, 不得存放于普通住宅内。
10. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明

1. 工作液配制: 将超敏 ECL A 液和超敏 ECL B 液按体积比例 1:1 混合, 现配现用。

Note: 为了获得最佳效果, 使用前准备工作液并立即使用。吸取 A 液和 B 液时一定要换枪头, 以免污染试剂。



2. 用平头镊从 TBST 或 PBST 中取出印迹膜，搭在滤纸上沥去膜上多余的液体，但不要接触膜的蛋白面，不要让膜干燥。
3. 将膜上有蛋白的一面朝上平整地铺在检测板上，加上配好的工作液。用量以覆盖膜为基准，1 mL 工作液可以覆盖大约 10 cm<sup>2</sup> 的膜。
4. 将膜与工作液孵育 1-2 min，以确保整个表面覆盖。
5. 通过放射自显影胶片或成像设备获取信号。对于一个未知的信号，可调节不同曝光的时间来获得最佳结果。

## 相关产品

产品编号	产品名称	产品规格
JY01054	高敏 ECL 化学发光检测试剂盒	100 mL (50+50)
JY01055	高敏 ECL 化学发光检测试剂盒	200 mL (100+100)
JY01056	高敏 ECL 化学发光检测试剂盒	500 mL (250+250)



## 常见问题

问题	可能原因	建议
胶片成像相反（如白色条带，黑色背景）	检测体系 HRP 过量	进一步稀释 HRP 偶联试剂
膜上呈现棕色或黄色条带		
避光条件下膜上具有发光斑点		
发光信号持续时间过短		
背景较高	抗原/抗体浓度过高	降低抗原/抗体浓度
	检测体系 HRP 过量	进一步稀释 HRP 偶联试剂
	封闭不充分	延长封闭时间或换用合适封闭剂
	洗涤不充分	增加洗涤体积和洗涤次数，延长洗涤时间
	胶片曝光过度	降低曝光时间
	抗体质量差	换用高质量抗体，或重新稀释新的一抗
	缓冲液污染	检测缓冲液颗粒或细菌等杂质，或更换新的缓冲液
信号较弱	检测体系 HRP 过量导致消耗更多底物，引起信号减弱	进一步稀释 HRP 偶联试剂
	抗原/抗体量较少	增大抗体和抗原的使用量
	转膜效果不佳	优化转膜条件，提高转膜效率
	HRP 酶活力或底物活力下降	于暗室中准备 1-2 mL 本品制备的发光液，关灯后，加入 1 $\mu$ L 待检测 HRP 标记物，该混合液会立即产生蓝色的光，且在后继几分钟内消退。如果没有，请检测另 1 支 HRP 标记物进行进一步检测
不规则黑点	膜上有气泡	轻轻将气泡移除
	膜未平衡	按照说明书处理膜
	转膜不充分	优化转膜条件
	被污染的设备	蛋白质或残留的凝胶块可能会粘到膜上，抗体被困在其中，因洗涤不佳，造成局部信号
	样品与膜相互作用	始终用干净的塑料托盘，避免任何类型的交叉污染
曝光胶片上呈现斑点背景	HRP 标记物形成聚合物	用 0.2 $\mu$ m 滤膜过滤 HRP 标记物
非特异性条带	检测体系 HRP 过量	进一步稀释 HRP 偶联试剂
	一抗用量过多	进一步稀释一抗
	SDS 造成非特异性结合	转膜后洗膜，去除 SDS
	抗体质量差，特异性弱	换用高质量抗体
	封闭不充分	延长封闭时间或换用合适封闭剂